

Pinja Toivanen

PROTEIINIEN KERTYMINEN ALZHEIMERIN TAUDISSA

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta
Kandidaatin tutkielma
Syyskuu 2019

TIIVISTELMÄ

Pinja Toivanen: Proteiinien kertyminen Alzheimerin taudissa
Kandidaatin tutkielma
Tampereen yliopisto
Bioteknologia
Syyskuu 2019

Alzheimerin taudissa amyloidi-beeta-peptidi (A β) sekä tau-proteiini alkavat kerääntyä aivokudokseen johtuen niiden patologisten translaation jälkeisten muutosten lisääntymisestä, sekä epätasapainosta niiden tuotannon ja hajotuksen välillä. A β on APP-geenin normaali tuote, mutta Alzheimerin taudissa sillä on havaittu aminopäässä monia translaation jälkeisiä muutoksia, jotka muuttavat sen kykyä muodostaa oligomeerejä. Liukoiset oligomeerit ovat avainasemassa A β :n patologistuuteen, sillä ne mahdollistavat A β :n kulkeutumisen aivojen läpi ja aiheuttavat mm. vesikkelien häirintää AMPAR-välitteisesti. Tau-proteiini toimii terveissä aivoissa mikrotubulusstabiloivana proteiinina, mutta Alzheimerin taudissa sen liiallinen fosforylaatio vähentää sen affiniteettia mikrotubuluksille, sekä aiheuttaa aksonin alkusegmentin uudelleenkohdistamista ja kromatiinin purkautumista sekä antaa sille neuronaalisen plakin muodostumisen kannalta välttämättömät dynaamiset ominaisuudet.

Alzheimerin taudin edetessä A β muodostaa hermosolujen ekstrasellulaariseen väli tilaan seniilejä amyloidiplakkeja ja tau muodostaa solujen sisäpuolelle steerisenä haittana toimivia neurofibrillejä. Yhdessä näiden proteiinien kertyminen aiheuttaa ikääntyvän ihmisen aivoissa mm. tulehdusvastetta, mitokondrioiden toimintahäiriötä, heikentynyttä aksonaalista kuljetusta sekä synaptista eksitotoksisuutta, jotka johtavat aivokudoksen rappeutumiseen ja kognitiivisen toiminnan heikentymiseen. A β ja tau-proteiineja on tutkittu paljon, mutta yhä tarvitaan lisää tutkimustyötä Alzheimerin taudin puhkeamisen perimmäisten syiden selvittämiseksi sekä uusien hoitomuotojen kehittämiseksi.

Avainsanat: Alzheimerin tauti, AD, amyloidi-beeta-peptidi, A β , tau, aggregaatio, kertyminen, amyloidiplakki, plakki, neurofibrilli

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	3
2. AMYLOIDI-BEETA-PEPTIDI (AB) JA AMYLOIDIPLAKIT ALZHEIMERIN TAUDISSA	3
2.1A β :n muodostuminen ja rakenne.....	3
2.2A β :n translaation jälkeiset muutokset	7
2.3Amyloidiplakkien muodostuminen	7
3. TAU-PROTEIINI JA NEUROFIBRILLIMUUTOKSET ALZHEIMERIN TAUDISSA	9
3.1Tau-proteiini	9
3.2Tau:n translaation jälkeiset muutokset.....	9
3.2.1 Tau:n fosforylaatio	10
3.2.2 Muut muutokset	11
3.3Neurofibrillaaristen muutosten muodostuminen.....	13
4. AB:N JA TAU-PROTEIININ YHTEISVAIKUTUKSET JA NEUROTOKSISUUS	14
5. YHTEENVETO	17
6. LÄHDELUETTELO	18

1. JOHDANTO

Alzheimerin tauti (Alzheimer Disease, AD) on maailman yleisin parantumaton muistisairaus, jota arvioiden mukaan sairastaa Suomessa yli 70 000 potilasta (Alzheimerinfo.fi, viitattu 15.10.18). Alzheimerin tauti on tyypillisesti ikääntyvillä ihmisillä esiintyvä vaiheittain ja hitaasti etenevä aivoja rappeuttava sairaus, jonka perimmäistä syytä ei tiedetä. Vaurioituminen alkaa aivojen ohimolohkoista ja leviää vuosien mittaan laajemmin aivokuorelle (Duodecim.fi, viitattu 15.10.18). Taudin kulku aiheuttaa aivoissa muutoksia, joista seuraa hermosolujen ja aivoalueiden hiljattainen tuhoutuminen.

Ensimmäisen kerran Alzheimerin tautiin sidoksissa olevia aivojen rakenteellisia muutoksia pystyttiin kuvantamaan 1960-luvulla elektronimikroskopian kehittymisen myötä, jolloin englantilainen Michael Kidd ja amerikkalainen Robert Terry kuvansivat aivoista seniilejä plakkeja ja neurofibrillaarisia muutoksia (Selkoe 2001). Kuitenkin vasta 1980-luvulla tapahtui sen verran edistystä muun muassa koostumusanalyysien ja immunosytokemian kehityksen myötä, että plakkien koostumusta pystyttiin selvittämään tarkemmin (Selkoe 2001). George G. Glenner ja Caine W. Wong eristivät ensimmäisenä amyloidi-proteiinin eli beeta-amyloidi-peptidin ($A\beta$) Alzheimer-potilaan aivojen amyloidiplakista vuonna 1984 (Selkoe 2001, Glenner, Wong 1984). Tau-proteiinien yhteyden Alzheimerin tautiin puolestaan löysivät ranskalaiset Jean Pierre Brion, Heloísa Passareiro, J. Nunez ja Jacqueline Flament-Durand vuonna 1985 neurofibrillimuutosten immunosytokemiallisten ja biokemiallisten analyysien avulla (Selkoe 2001, Brion, Passareiro ym. 1985).

Tässä kandidaatin tutkielmassa keskitytään $A\beta$:n sekä tau-proteiinin kertymiseen aivoihin. Nämä proteiinit alkavat muodostaa plakkeja ja fibrillejä aivokudokseen jo taudin alkuvaiheessa kauan ennen kliinisten oireiden ilmaantumista (Seppälä, Nerg ym. 2012). $A\beta$ -neurotoksisuus johtuu spesifisistä $A\beta$ -tyypeistä, jotka muodostuvat proteolyyttisen katkaisun ja translaation jälkeisten muutosten seurauksena, ja jotka ovat alttiita aggregoitumaan (Polanco, Li ym. 2018). Samoin kuin $A\beta$, tau esiintyy useina isoformeina Alzheimer-potilaan aivoissa, ja nämä eri muodot ovat alttiita monille post-translaatiomuutoksille sekä aggregoitumiselle (Polanco, Li ym. 2018).

2. AMYLOIDI-BEETA-PEPTIDI ($A\beta$) JA AMYLOIDIPLAKIT ALZHEIMERIN TAUDISSA

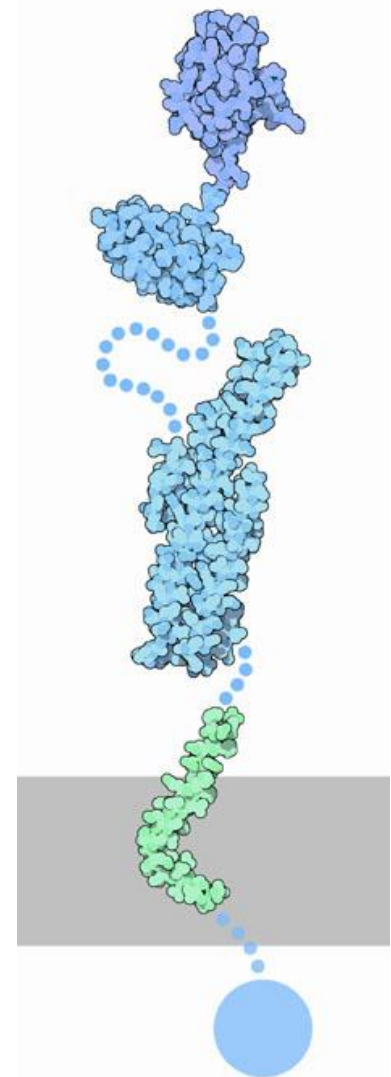
2.1 $A\beta$:n muodostuminen ja rakenne

Amyloidi-beeta-prekursoriproteiini (APP) on solujen solukalvoilta kaikkialta kehosta löytyvä proteiini, jolla on keskeinen rooli useissa solun toiminnoissa (Goodsell 2006). Solukalvoon kiinnittynyt ehjä APP on mm. reseptoriproteiini, joka lähettää signaaleja G-proteiinijärjestelmän kautta (Goodsell 2006). APP-isoformeja on useita, joista vallitseva neuronaalimuoto on APP695, kun taas astrocytit ja mikroglija ekspressoivat myös muotoja APP751 ja APP770 (Polanco, Li ym. 2018). APP-prosessointi tapahtuu monissa hermosolun osissa, mukaan lukien aksonit, hermopäätteet ja

dendriitit, mikä aiheuttaa erilaisia biologisesti aktiivisia fragmentteja (Polanco, Li ym. 2018). APP voidaan hajottaa toiminnallisiin fragmentteihin tiettyjen proteaasien avulla, joita kutsutaan α -, β - ja γ -sekretaasiksi (Crescenzi, Tomaselli ym. 2002). Nämä proteaasit leikkaavat proteiinin poikki solunlöpäisevän domeenin molemmista päistä, jolloin suuri solun ulkopuolinen kappale vapautuu solun ulkopuolelle, jossa se auttaa mm. hallitsemaan hermokasvua. Pienempi kappale vapautuu solun sisälle, jossa se vuorovaikuttaa tuuman proteiinisynteesikoneiston kanssa. Pieni amyloidi-beeta-peptidi ($A\beta$), joka jää keskelle, on osa, jota on tutkittu eniten, koska se on keskeinen toimija Alzheimerin taudissa (kuva 1). (Goodsell 2006)

Ei-amyloidogeenisessä (eli ei- $A\beta$:tä muodostavassa) APP-prosesointireitissä, jota stimuloi synaptinen aktiivisuus, solukalvon APP pilkotaan pääasiassa α -sekretaasin, disintegroinin ja metalloproteiinaasi-domeenin sisältävän proteiinin 10 (ADAM10) avulla, ja koska alkuperäinen α -pilkkoutuminen tapahtuu $A\beta$ -alueen sisällä, $A\beta$:n muodostumista ei tapahdu (kuva 2, vaihe 4) (Polanco, Li ym. 2018). Sitä vastoin kaanoninen amyloidogeeninen reitti johtaa $A\beta$:n muodostumiseen (Polanco, Li ym. 2018). Solukalvon APP, joka ei ole läpikäynyt α -pilkkoutumista, siirretään endosomeihin, missä se pilkotaan β -sekretaaseilla 1 ja 2 (BACE1 ja BACE2). Pitkä β -sekretaasi-C-terminaalinen fragmentti (β -CTF, tunnetaan myös nimellä C99) pysyy kiinnitettynä kalvoon, kun taas liukoinen APP β (sAPP β) vapautuu (kuva 2, vaihe 5). Myöhemmin γ -sekretaasi-kompleksi pilkkoo aluksi β -CTF:n endoproteolyttisillä ϵ -leikkauksilla, generoimalla AICD:n sekä $A\beta$:n muotoja $A\beta$ 48 sekä $A\beta$ 49 (kuva 2, vaihe 7). Näitä kahta peptidiä prosessoidaan edelleen γ -sekretaasilla muodostaen lyhyempiä peptidejä: $A\beta$ 48 tuottaa $A\beta$ 45:n, $A\beta$ 42:n ja $A\beta$ 38:n, kun taas $A\beta$ 49 tuottaa $A\beta$ 46:n, $A\beta$ 43:n ja $A\beta$ 40:n (taulukko 1). Myös muita, jopa lyhyempiä pilkkoutumistuotteita on tunnistettu. (Polanco, Li ym. 2018)

APP-prosesointi on tiukasti säänneltyä, ja APP-proteiinia ja sen osia kuljetetaan erittävien vesikkeleiden avulla dendriittejä ja aksoneja pitkin presynaptisiin ja postsynaptisiin päätteisiin (kuva 2, vaihe 3). Kaanonisen amyloidogeenisen reitin BACE1:n ja APP:n välinen vuorovaikutus tapahtuu kaikissa neuronin osissa, ja hermostoaktiivisuus tehostaa näiden entsyymien ja niiden substraattien vuorovaikutusta kierrättävissä endosomeissa. Aktiivinen γ -sekretaasi puolestaan sijaitsee myöhään kierrätettävissä endosomeissa, lysosomeissa, trans-Golgi-verkossa sekä solukalvolla (kuva 2, vaihe 6). Mitokondrioihin liittyvä endoplasminen retikulum on saanut yhä enemmän huomiota, koska γ -sekretaasi-kompleksi on erittäin aktiivinen kyseisessä kalvostossa, ja sen toiminta myös häiriintyy AD-potilaiden soluissa. Vaikka $A\beta$ voidaan erittää sekä presynaptisesti että postsynaptisesti, suurin osa aksonaalisesti erittyvistä fragmenteista endosytoidaan soomassa, ja prosessoidaan ja kuljetetaan sitten presynapseihin. (Polanco, Li ym. 2018) Muitakin ei-kaanonisia (δ -



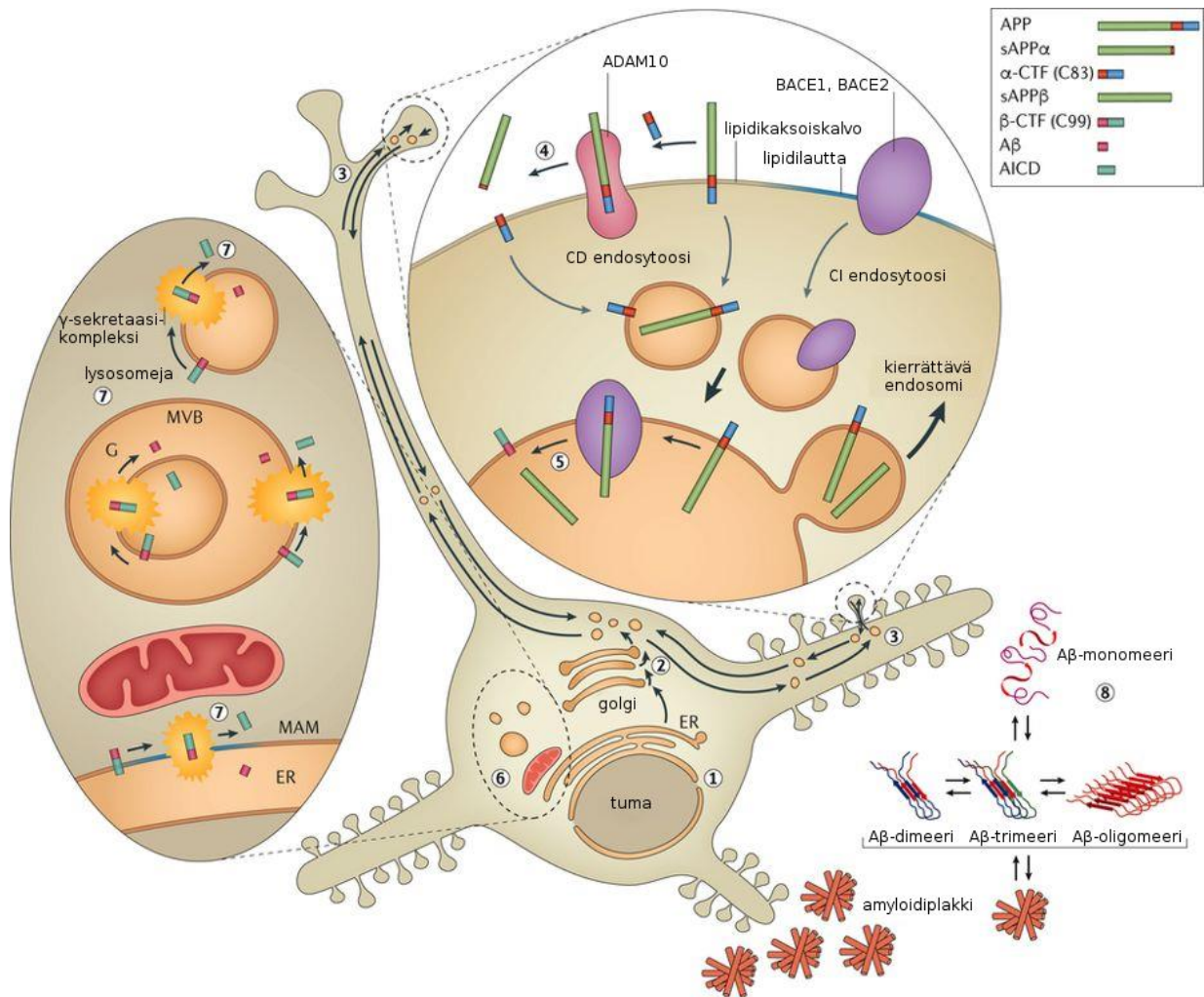
Kuva 1. Amyloidi-prekursoriproteiini (APP), jossa eri väreillä kuvattu eri alayksikkörakenteet. Vaaleanvihreällä solukalvon läpäisevä amyloidi-beeta-peptidi ($A\beta$). Kuva: Goodsell 2006

sekretaasi, mepriini- β , η -sekretaasi ja kaspaasi) APP-prosessointireittejä on alettu tutkia, mutta niiden vaikutus Alzheimerin tautiin ei ole vielä selvä (Polanco, Li ym. 2018).

Kaikilla amyloidi-beeta-peptideillä on suuri taipumus kerääntyä vesiliuoksessa, mutta $A\beta$ -lajien toksisin muoto ja plakkien pääkomponentti on $A\beta_{42}$ (Crescenzi, Tomaselli ym. 2002, Polanco, Li ym. 2018). $A\beta_{42}$:n suhteellinen runsaus kertoo, että pieni hydrofobisten aminohappotähteiden kasvu C-terminaaliosalla alueella kasvattaa dramaattisesti tämän peptidin taipumusta aggregoitua (Crescenzi, Tomaselli ym. 2002). Kuitenkin, kaikkien $A\beta$ -muotojen toksisuus on vahvasti riippuvainen niiden konsentraatiosta aivoissa (Polanco, Li ym. 2018). Peptidien voimakkaan vesiliuoksessa aggregoitumisen takia peptidiä koskevat konformaatiotutkimukset ovat olleet vaikeita tutkia (Crescenzi, Tomaselli ym. 2002). $A\beta$:n sekundäärirakenne on *in vitro* voimakkaasti riippuvainen kokeellisista olosuhteista. Tämä on tyypillinen piirre pienille ja keskisuurille peptideille, mutta $A\beta$:n tapauksessa konformaationaalinen joustavuus on erityisen mielenkiintoista, koska se voi liittyä sen biologiseen aktiivisuuteen.

Peptidien $A\beta_{40}$ ja $A\beta_{42}$ NMR-rakenteet onnistuttiin ensimmäisen kerran määrittämään vesipitoisessa trifluorietanolissa ja SDS-miselleissä. Kaikki nämä tutkimukset viittasivat kahden kierteen alueen läsnäoloon, jotka on liitetty toisiinsa joustavalla käännoksellä. Osoittautui kuitenkin vaikeaksi määrittää kiertesten osuuksien pituus ja sijainti tarkasti, sekä ennen kaikkea selvittää, onko käännoksen alueella edullinen konformaatio. Kun etsittiin liuotinta, joka voisi mahdollistaa tarkemman rakenteen määrittämisen, tutkittiin rakennetta useissa erilaisissa liuottimissa. Osoittautui, että $A\beta_{42}$:llä on suurin taipumus esiintyä helikaalisessa konformaatiossa fluorattujen alkoholien vesiliuoksissa. Standardilla DYANA-protokollalla pystyttiin ennustamaan 20 rakennetta, joilla saavutettiin tyydyttävät arvot kohdefunktiosta. (Crescenzi, Tomaselli ym. 2002).

$A\beta_{42}$:n yleinen muoto muistuttaa voimakkaasti influenssan hemagglutiniinin fuusiodomeenin (HA_{fd}) rakennetta. Vielä merkittävämpää on havainto, että $A\beta_{42}$:n ja HA_{fd}:n C-terminaalisen osan sekvenssit jakavat todella suuren samankaltaisuuden, mikä johtuu olennaisesti samanlaisen välimatkan päässä olevista glysiinitähteistä, joita pidetään välttämättöminä hyvälle tarttumiselle kalvoon, ja jotka ovat myös usein mukana kalvoproteiinin dimeroinnissa. Näiden tähteiden samankaltaisuuden todistaa myös niiden samanlainen jakautuminen rakenteiden pinnalla. Vaikka sekvenssit eivät ole samat, molemmissa rakenteissa on kuitenkin hydrofobinen alue, jonka muodostavat 4/5 alifaattisten ja/tai aromaattisten sivuketjujen yhdistymä. Nämä löydökset tukevat voimakkaasti hypoteesia, jonka mukaan peptidin neurotoksisuus johtuu kalvoonkiinnittymisprosessista. (Crescenzi, Tomaselli ym. 2002)



Nature Reviews | Neurology

Kuva 2. Amyloidi prekursori proteiinin (APP) prosessointireitit ja amyloidi-β-peptidin (Aβ) muodostuminen. Täysikokoinen APP syntetisoidaan endoplasmisessa retikulumissa (ER), jossa se taitellaan oikeaan muotoonsa (vaihe 1). APP:n translaation jälkeiset muutokset tehdään ensin ER:ssä ja sitten Golgissa (vaihe 2). Tämän jälkeen valmis APP kuljetetaan erittävien vesikkeleiden avulla neuronin presynaptisiin ja postsynaptisiin osiin (vaihe 3). Ei-amyloidogeenisellä reitillä APP kohdistetaan solukalvolle, jossa se pilkotaan α-sekretaasin, disintegriniin ja metalloproteiinaasidomeenin sisältävällä proteiinilla 10 (ADAM10), jolloin muodostuu liukoinen APPα (sAPPα) ja α-sekretaasi C-terminaalinen fragmentti (α-CTF, tunnetaan myös nimellä C83) (vaihe 4). Täysipitkä APP ja α-CTF otetaan solukalvolta klatriniriippuvaisella (CD) endosytoosilla, kun taas lipidilauttoihin kiinnittyneet β-sekretaasit 1 ja 2 (BACE1 ja BACE2) otetaan solukalvolta klatriniriippumattomalla (CI) endosytoosilla (vaihe 5). APP, BACE1 ja BACE2 kohtaavat varhaisissa endosomeissa. Endosomien matala pH helpottaa β-sekretaasin aktivaatiota, mikä aloittaa amyloidogeenisen reitin: APP pilkotaan liukoiseksi APPp:ksi (sAPPp) ja β-sekretaasi-C-terminaalisiksi fragmentiksi (β-CTF, tunnetaan myös nimellä C99). Sekä prosessoimaton, täysipitkä APP, että sAPPβ voidaan viedä takaisin solukalvolle kierrättämällä endosomeja. β-CTF-fragmentti voidaan kuljettaa endosyyttisen reitin kautta trans-Golgi-verkostoon ja ER:iin, samoin kuin myöhäisiin endosomeihin, monisoluisiin kappaleisiin (MVB) ja lysosomeihin (vaihe 6). γ-sekretaasi-komponenttien kuljetus on monimutkaista, mutta APP:n lopullinen γ-pilkkominen tapahtuu todennäköisesti mitokondrioihin liittyvissä ER-kalvoissa (MAM), MVB:issä ja lysosomeissa (vaihe 7). Siellä γ-sekretaasikompleksi tunnistaa β-CTF:n ja pilkkoo sen APP:n solusisäiseksi domeeniksi (AICD) ja Aβ:ksi. Amyloidiplakkien muodostuessa Aβ-monomeerejä on tasapainossa korkeamman molekyyli-massan aggregaattien (dimeerit, trimeerit ja oligomeerit) kanssa (vaihe 8). Kuva: Polanco, Li ym. 2018, suomentanut Pinja Toivanen

2.2 Aβ:n translaation jälkeiset muutokset

Aβ on APP-geenin normaali tuote. Alzheimer-aivoista eristetyllä Aβ:lla on kuitenkin havaittu lukuisia post-translationalaisia modifikaatioita aminopäässä, mukaan lukien hapettuminen, pyroglutamylation, fosforylation, nitration, isomerization, sumoylation ja glykosylation, jotka kaikki muuttavat peptidin oligomerointi- ja fibrillinmuodostusominaisuuksia (Polanco, Li ym. 2018). Lisäksi Alzheimer-potilailla havaitaan APP-geenin alueella mutaatioita, jotka lisäävät Aβ:n muodostumista suosimalla APP:n proteolyttistä käsittelyä β- tai γ-sekretaasilla, sekä Aβ-sekvenssin sisäisiä mutaatioita, jotka parantavat Aβ:n aggregoitumista multimeerisiksi rakenteiksi (Hardy, Selkoe 2002).

Yksi havaituista translaation jälkeisistä muutoksista on Met35:n rikkiatomin hapetus sulfoksidiksi, jolloin Aβ ei kykene tunkeutumaan lipidikalvoin muodostamaan ionikanavamaisia rakenteita, ja β-levyrakenteen muodostuminen on estetty (Barnham, Cicciotosto ym. 2003, Polanco, Li ym. 2018). Näin ollen Met(O)Aβ-tuotanto myötävaikuttaa aivoissa havaitun liukoisen Aβ:n koaamiseen Alzheimerin taudissa.

N-terminaalisesti katkaistujen ja erityisesti pyroglutamaatti(pE)-modifioitujen Aβ-peptidien puolestaan on ehdotettu olevan tärkeitä patologisten kaskadien aloittamisessa niiden runsauden, proteolysisresistenssin, nopean aggregaation ja neurotoksisuuden takia (Demuth, Heiser ym. 2008). Aβ:n pyroglutamaattimodifikaatiosta on ilmoitettu *in vivo* asemassa 3 ja 11 (3 pR-Aβ ja 11 pE-Aβ), ja se lisää Aβ:n taipumusta muodostaa β-levyrakenteita ja aggregoitua *in vitro* (Weiland, Colin 1999, Polanco, Li ym. 2018). 11 pE-Aβ:n muodostuminen vaatii glutamiinyyli-syklaasi-entsyymiä, jonka ekspressio kasvaa AD:ssa (Demuth, Heiser ym. 2008).

Aβ voi epäsuorasti aktivoida ja sitoutua suoraan NMDAR- ja AMPAR-reseptoreihin, jotka indusoivat synapseissa pitkäaikaista potentiaalia, ja alentaa adapteriproteiineihin kuuluvan postsynaptisen tiheyden proteiinin 95 (PSD95, tunnetaan myös nimellä DLG4) tasoja, mikä edelleen säätelee negatiivisesti näitä reseptoreita endosytoosin kautta ja vähentää reseptorien alayksiköiden ekspressiota (kuva 4C) (Polanco, Li ym. 2018). Pitkäaikaiseen potentiaalin vähentämiseen sisältyy yleensä myös translaation jälkeisiä modifikaatioita, mukaan lukien sumoylation, ja oligomeerinen Aβ42 heikentää tätä prosessia (Polanco, Li ym. 2018).

AD-hiirimalleissa sekä AD potilailla on havaittu myös Aβ:n Ser8-tähteen fosforyloitumista, mikä suosii hajoamiselle vastustuskykyisten oligomeeristen aggregaattien muodostumista (Polanco, Li ym. 2018). Lisäksi amyloidisten plakkien ytimistä on löydetty nitrattua Aβ:tä, joka saattaa olla avainasemassa plakin muodostumisen käynnistymisessä (Polanco, Li ym. 2018). AD-potilaiden aivo-selkäydinnesteestä on tunnistettu myöskin Aβ O-glykopeptideitä, jotka kuitenkin muodostuvat vain lyhyistä Aβ-peptideistä. Modifioitua Aβ40:tä tai modifioitua Aβ42:tä ei havaittu, mikä viittaa siihen, että O-glykosylation vaikuttaa γ-sekretaasin kykyyn pilkkoa AS. (Polanco, Li ym. 2018)

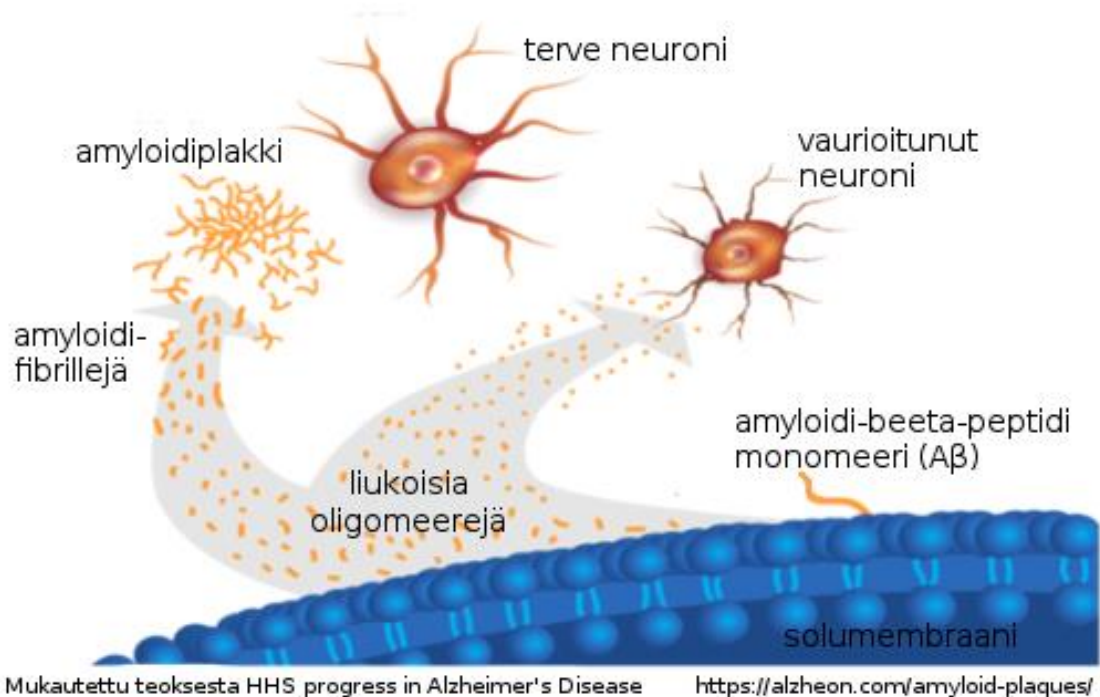
2.3 Amyloidiplakkien muodostuminen

Erityinen plakin muodostumiseen johtava prosessi ymmärretään vain puutteellisesti, mutta kun Aβ erittyy ja kertyy solunulkoiseen tilaan, se aggregoituu muodostaen amyloidisia plakkeja (Polanco, Li ym. 2018). Hermosoluissa muodostuvat Aβ-monomeerit eivät ole pääsyy Aβ-toksisuuteen (Gouras, Olsson ym. 2015), vaan Aβ:n kerääntyminen oligomeereiksi on avain niiden biologiseen vaikutukseen Alzheimerin taudissa (kuva 3) (Murphy, LeVine 2010). Kerääntymismalleja on kaksi erilaista, ja niillä on erilaiset biologiset ominaisuudet: amyloidifibrillien kerääntymismalli sekä ei-fibrillaaristen aggregaattien kerääntymismalli. Nämä ei-fibrilliset aggregaatit eli oligomeerit eivät kehity fibrilleiksi asti, ja näihin kuuluvat esimerkiksi dodekameerit, joita kutsutaan myös Aβ*56:ksi

niiden 56 kDa-koon perusteella (Polanco, Li ym. 2018). Nykyinen painopiste on tässä A β -kerääntymisen aikaisemmassa vaiheessa, joka sisältää A β -peptidin liukoisia oligomeerejä (Murphy, LeVine 2010). Nämä tyypin 1 rakenteet ovat paljon toksisempia eri tyyppisille soluille, sillä ne voivat kulkea aivojen läpi, kun taas tyypin 2 rakenteet rajoittuvat plakkin läheisyyteen (Polanco, Li ym. 2018). Tyypin 1 oligomeerit ovat siten tyypin 2 oligomeerejä todennäköisempiä häiritsemään synaptista toimintaa ja aiheuttamaan kognitiivisia puutteita. Tyypin 1 oligomeerin A β *56 tasot hiirimalleissa ja ihmisnäytteissä korreloivat kognitiivisen heikentymisen ja patologisen tau-proteiinin kerääntymisen kanssa (Polanco, Li ym. 2018).

Liukoisten multimeerien kerääntymismalli ja fibrillilaarinen kerääntymismalli ovat sekä morfoloogisesti että konformaationaalisesti erillisiä. Liukoiset tyypin 1 oligomeerit esiintyvät Alzheimerin taudissa jo varhain, kun taas fibrillaariset tyypin 2 oligomeerit ilmestyvät vasta kun plakit ovat muodostuneet (Murphy, LeVine 2010). Fibrillaariset oligomeerit järjestäytyvät plakin pinnalla pieniksi, vakaiksi rakenteiksi paralleelisella β -arkkitehtuurilla (Polanco, Li ym. 2018). Fibrillin kasvu on lineaarisesti riippuvainen A β -monomeerikonsentraatiosta ja on erittäin spesifinen amyloidifibrillin muodon suhteen (Murphy, LeVine 2010). On todisteita, että liukoisen oligomeerin muodostumiseen ja fibrillin muodostumiseen on erilaiset reitit, mutta mekaanisesti molempien prosessien täytyy kulkea multimeeristen vaiheiden kautta (Murphy, LeVine 2010). Vaikka fibrillisen mallin osallisuuden kokonaan hylkääminen Alzheimerin taudissa on todennäköisesti ennenaikaista, A β -kentän painopiste on siirtynyt liukoisii oligomeereihin (Murphy, LeVine 2010).

Koska A β -pitoisuudet aivojen interstitiaalisessa nesteessä ovat vähintään kolme suuruusluokkaa pienempiä kuin fibrillinmuodostusmäärityksissä, on todennäköistä, että fibrillinmuodostus tapahtuu ekstrasellulaarisessa matriisissa tai solujen pinnoilla (Murphy, LeVine 2010). Plakkeja voi kuitenkin muodostua myös solujen sisään A β :n internalisoitumisen jälkeen, ja solunsisäisen plakin muodostumiseen liittyy moninainen soluelinten häiriö, joka edeltää solukuolemaa (Polanco, Li ym. 2018).



Mukautettu teoksesta HHS progress in Alzheimer's Disease

<https://alzheon.com/amyloid-plaques/>

Kuva 3. Vähentynyt A β -monomeerien puhdistuma sekä niiden aggregaatio toksisiksi liukoisiksi oligomeereiksi aloittavat Alzheimerin taudin patologian.

3. TAU-PROTEIINI JA NEUROFIBRILLIMUUTOKSET ALZHEIMERIN TAUDISSA

3.1 Tau-proteiini

Tau-proteiini kuuluu MAP-proteiiniperheeseen, johon kuuluvat myös MAP2- ja MAP4-proteiinit. MAP4 ilmenee monissa kudoksissa, mutta MAP2 ja tau sijaitsevat pääasiassa neuroneissa. Aikuisen aivoissa MAP2 on pääosin lokalisoitu neuronien solukeskuksiin eli soomiin, sekä dendritteihin, kun taas tau-proteiinia on runsaimmin aksoneissa, joissa se sitoutuu mikrotubuluksiin, ja oletettavasti stabiloi niiden rakennetta (Polanco, Li ym. 2018). Tau on myös paikallistettu tumaan, jossa sillä voi olla rooli DNA:n eheyden ylläpitämisessä (Polanco, Li ym. 2018).

Ihmisen aivoissa tau-proteiinit esiintyvät kuutena erilaisena isoformina, joiden pääluokat ovat 3R- ja 4R-isoformit, riippuen siitä, onko proteiinin karboksiterminaalissa vahvasti konservoituneita mikrotubulusta sitovia domeeneita kolme vai neljä kappaletta (Polanco, Li ym. 2018). 4R-isoformeissa on neljä mikrotubulusta sitovaa toistojaksoa (R1, R2, R3 ja R4), ja 3R-isoformeista puuttuu toinen (R2) toistojakso (Falcon, Zhang ym. 2018). Lisäksi isoformit eroavat sen suhteen, onko projisointialueen sisällä nolla, yksi vai kaksi insertiota (0N, 1N ja 2N) (taulukko 1) (Polanco, Li ym. 2018). Alzheimerin taudin patologiset tau-filamentit koostuvat kaikista kuudesta isoformista (Falcon, Zhang ym. 2018).

Tau-toksisuutta ilmenee, kun tau-patologiset muodot kertyvät neuronin osiin, joissa tau-tasot ovat tavallisesti alhaisia, kuten soomaan. Tällainen tau:n epänormaali kertyminen voi haitata muita proteiineja ja estää niitä suorittamasta fysiologista toimintaansa. Sitä, miten "aksonaalinen" proteiini tau keraantuu somatodendriittiseen osastoon, ei vielä täysin ymmärretä, mutta patologisen, hyperfosforyloidun tau:n oletetaan yleensä irtoavan mikrotubuluksista ja siten kykenevän kulkemaan aksonin alkuosan läpi, joka toimii fysiologisesti fosforyloidun tau:n diffuusiorajana, ja joka mahdollistaa sen kertymisen solun runkoon ja dendritteihin. On myös havaittu, että endogeeninen tau vapautuu vasteena hermosolujen aktiivisuudelle, mutta tämän havainnon fysiologinen merkitys on edelleen epäselvä. (Polanco, Li ym. 2018)

Vaikka tau on pitkälti havaittu mikrotubulusstabilisoivana proteiinina, tau:n geneettinen poistaminen hiirimalleissa osoittaa, että mikrotubulukset eivät destabiloidu, mahdollisesti johtuen muista MAP-perheenjäsenistä koostuvista kompensointimekanismeista (Polanco, Li ym. 2018). Siksi ehkä paras tau:n kuvaus on, että sen erilaiset isoformit toimivat monipuolisina rakennustelineinä (Polanco, Li ym. 2018).

3.2 Tau:n translaation jälkeiset muutokset

Tau läpikäy useita translaation jälkeisiä modifikaatioita, mukaan lukien fosforylaatio, proteolyyttinen pilkkoutuminen, glykosylaatio, asetylointi, prolyyli-isomerointi, ubiquitinaatio, sumoylaatio, metylaatio, polyaminaatio, glykaatio ja nitraatio (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Näistä muunnoksista fosforylaatio ja asetylointi ovat ylivoimaisesti yleisimpiä (Polanco, Li ym. 2018). Translaation jälkeiset muutokset voivat säädellä tau:n affiniteettia mikrotubuluksiin ja joidenkin modifikaatioiden epänormaali taso voi laukaista tau-aggregaation (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Lisäksi joidenkin modifikaatioiden merkityksestä tau:n amyloidogeneesissä on ristiriitaisia raportteja.

Tau-toksisuus on erittäin riippuvainen translaation jälkeisistä muutoksista, ja suuri määrä tutkimuksia on osoittanut, että erityisesti hyperfosforyloitu tau heikentää hermosolujen toimintaa. Valitettavasti ihmisen AD-kudoksen tai siirtogeenisten eläinten tutkimukseen kuuluu tyypillisesti vain

pieni määrä vasta-aineita, joista kukin havaitsee erillisen post-translationalaisesti modifioituneen epitopin tau:ssa. Esimerkiksi AT8-vasta-aine tunnistaa tau:n, joka on fosforyloitu sekä Ser202:ssa että Thr205:ssä. Tällaiset kokeet eivät välttämättä tarjoa kattavaa karttaa tau-muunnoksista. (Polanco, Li ym. 2018)

3.2.1 Tau:n fosforylaatio

Pisin ihmisen tau-isoformi sisältää 45 seriiniä, 35 treoniini- ja 5 tyrosiinitähdettä, joista jokainen voi olla fosforyloitu. Fysiologisissa olosuhteissa mooli tau:ta sisältää keskimäärin 2-3 moolia fosfaattia, mutta patologisissa olosuhteissa tau voi sisältää jopa 7-8 moolia fosfaattia. Tätä tilannetta kutsutaan hyperfosforylaatioksi, ja se johtuu kinaasien lisääntyneestä aktiivisuudesta ja fosfaataasien aktiivisuuden vähenemisestä. Tau-tutkimuksen painopisteenä on ollut monien vuosien ajan seriinin ja treoniinin fosforylaatio, joka on erityisen yleistä patologisesti hyperfosforyloidussa tau:ssa. (Polanco, Li ym. 2018)

Kuinka helposti tau voidaan fosforyloida tai defosforyloida riippuu sen konformaatiosta. Esimerkiksi taun cis-konformaatio on tunnistettu AD:n ja muiden tauopatioiden varhaiseksi patogeneesiksi kuljettajaksi, koska sillä on lisääntynyt resistenssi proteiinfosfataasi-2A-välitteiseen defosforylaatioon ja hajoamiseen. Ikääntymisellä on myös rooli patologisen tau-fosforylaation kiihdyttämisessä. Kun ihmisen tau-ilmentäviä transgeenisia hiiriä siirrettiin toistuvasti takaisin vanhemisnopeutetulle SAMP8-taustalle, uuden hybridikannan hiirillä oli ikään liittyvä patologisen tau-fosforylaation lisääntyminen spesifisissä tähteissä (Ser202, Thr205 ja Ser235) verrattuna alkupe-raisiin siirtogeenisiin hiiriin. (Polanco, Li ym. 2018)

Terveissä aivoissa fosforylaatio saa aikaan tau:n muodostumisen "paperiliitin"-konformaatioon ja sitoutumaan mikrotubuluksiin. Lisääntynyt fosforylaatio kuitenkin vähentää tau:n affiniteettia mikrotubuluksille ja antaa tau:lle neuronaalisen plakin muodostumisen kannalta välttämättömät dynaamiset ominaisuudet. (Polanco, Li ym. 2018) Terveen ihmisen aivosta johdetuissa solulinjoissa rekombinanttinen tau edistää mikrotubulusten muodostumista ja pysyvyyttä, kun taas hyperfosforyloitu tau, joka on eristetty AD-aivojen sytosolista, estää sitä ja häiritsee olemassa olevia mikrotubulusverkostoja sitomalla tau:ta ja MAP2:ta (kuva 4G) (Polanco, Li ym. 2018).

Hyperfosforyloitu tau vaikuttaa patologisesti myös neuronien tumassa. Esimerkiksi siirtogeenisessä *Drosophila*-mallissa patogeeninen tau edistää neurodegeneraatiota globaalin kromatiinin rentoutumisen kautta (kuva 4A) (Frost, Hemberg ym. 2014). Terveissä neuroneissa tau säätelee suoraan perisentromeerisen heterokromatiinin eheyttä, joka näyttää hajoavan AD-neuroneissa (Polanco, Li ym. 2018). Täten patologinen tau heikentää toimintoja kaikkialla neuroneissa.

Eri seriini- ja treoniiniepitopien fosforylaatio ohjaa myös tau-lokalisointia, ja hyperfosforylaation uskotaan myös olevan edellytyksenä fibrillaarisen taun kertymiselle somatodendriittiseen domeeniin (kuva 4B). Kysymykseen siitä, miten "aksonaalinen" proteiini tau kerääntyy AD:n somatodendriittiseen osastoon, ei ole vielä lopullisesti vastattu, mutta hyperfosforyloitu tau aksonissa oletetaan yleensä irtoavan mikrotubuluksista ja siten kykenevän kulkemaan aksonin alkuosan läpi (joka toimii fysiologisesti fosforyloidun tau:n diffuusiorajana, joka mahdollistaa sen kertymisen solun runkoon ja dendriitteihin. Kuten jäljempänä on esitetty, on löydetty vaihtoehtoinen, entistä houkuttelevampi mekanismi, johon kuuluu de novo -proteiinisynteesi tau-proteiinissa. (Polanco, Li ym. 2018)

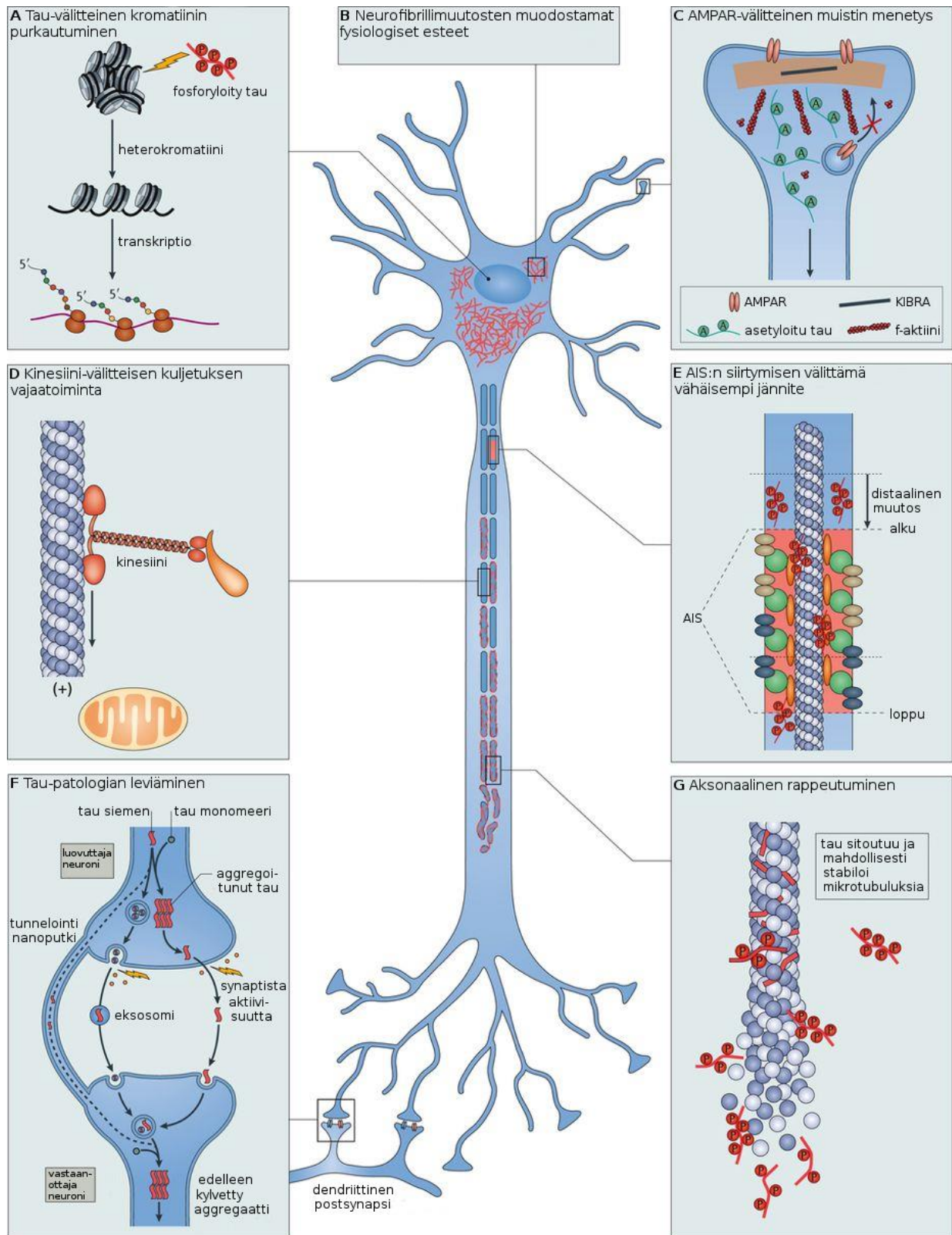
Tau-transgeenisissä hiirissä hyperfosforyloitu liukoinen tau myös heikentää eri lastien, kuten mitokondrioiden, aksonaalista kuljetusta tarttumalla kinesiinimoottorin adapteriproteiinin Jun-amino-terminaalisen kinaasi-vuorovaikutteisen proteiinin 1 (JIP1) solukappaleeseen (kuva 4D).

(Polanco, Li ym. 2018) Lisäksi on osoitettu, että hyperfosforyloitu tau vähentää neuronien jänniteherkkyyttä siirtämällä aksonin alkuosaa (kuva 4E). Vasta-aineisiin sitoutumista koskevat tutkimukset osoittivat, että taun fosforylaatio spesifisissä tähteissä (kuten AT180 (Thr231 ja Ser235) tai 12E8 (Ser262 ja Ser356), mutta ei PHF-1 (Ser396 ja Ser404)) oli välttämätöntä tässä patologisessa uudelleenjärjestäytymisessä. Tämä havainto osoittaa erilaisten fosforyloitujen tau-lajien roolin hermosolujen herkkyyden säätelyssä.

3.2.2 Muut muutokset

Tau-asetylointi lyysiinitähteissä (kuten Lys280 ja Lys174) voi estää tau:n hajoamista, heikentää tau:n vuorovaikutusta mikrotubulusten kanssa, edistää patologista tau-aggregaatiota sekä häiritä synaptista signalointia vähentämällä postsynaptisen signaloinnin tasoa ja munuaisten ja aivojen KIBRA-proteiinia (muistiin liittyvä proteiini) ja lopulta aiheuttaa kognitiivisia puutteita (kuva 4C). (Polanco, Li ym. 2018)

Kaspaasien ja asparagiini-endoropeptidaasin muodostamat tau-proteiinin erotetut katkaistut muodot myötävaikuttavat kiihdytettyyn neurofibrillaariseen sotkeutumiseen ja heikentyneeseen muistitoimintaan ja synnyttävät mitokondrioiden dysfunktion. Taun patologiset muodot heikentävät mitokondrioiden funktion kaikkia tärkeimpiä näkökohtia, vaikka mitofagiaa ei ole tutkittu laajasti. (Polanco, Li ym. 2018)



Nature Reviews | Neurology

Kuva 4. Patologisen tau:n vaikutukset neuronin eri osissa. Neuronin soomassa tau vaikuttaa A) tumassa DNA:n pakkautumiseen ja B) muodostaa steerisiä esteitä pakkautumalla neurofibrillaarisiksi muutoksiksi. Dendriteissä C) tau estää AMPAR-välitteisesti signaaleja. Aksoneissa tau D) haittaa kinesiniin kuljetusta, E) vähentää jännitettä AIS-välitteisesti sekä G) mahdollisesti vaikuttaa mikrotubulusten stabiiliuteen. F) Patologinen tau leviää neuronista toiseen synapsien välityksellä. Kuva: Polanco, Li ym. 2018, suomennut Pinja Toivanen

3.3 Neurofibrillaaristen muutosten muodostuminen

Kriittisiä vaiheita, jotka johtavat tau-aggregaatioon AD:ssä translaation jälkeisten muutosten seurauksena, ei ole täysin ymmärretty. Sytoplasmisten tau-tasojen kasvaessa tau-aggregaatit muodostuvat ja lopulta muodostuu liukenemattomia filamentteja, jotka täyttävät koko sooman, mikä johtaa neurofibrillaarisiin muutoksiin. Fibrillin muodostuminen itsessään tapahtuu seurauksena siirtymisestä satunnaiskierukka-arkkitehtuurista β -levy-rakenteeseen, joka on tyypillinen kaikille amyloidifibrilleille. (Polanco, Li ym. 2018) Laajasti hyväksytyn mallin mukaan tau:n amyloidogeneesi eli fibrillien muodostuminen etenee polymerointimekanismin kautta, joka on yleinen monille amyloidogeenisille proteiineille (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Tau-fibrilisaatioprosessissa näkyy sigmoidinen kinetiikka, jolle on tunnusomaista kolme päävaihetta: viivefaasi, pidentymisvaihe ja tasaantumisvaihe.

Muutokset viivefaasin aikana ovat hitaita johtuen pääasiassa entrooppisista esteistä (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Viivevaiheen aikana tau:ssa tapahtuu muutoksia, jotka voivat johtaa muun muassa sen aminotermiinin assosioitumiseen mikrotubulusta sitovien jaksojen kanssa (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). On havaittu, että tietyt lyhyet aminohapposekvenssit ovat erityisen tärkeitä tau-aggregaation varhaisten vaiheiden aloittamiselle, kuten mikrotubulusten sitoutumisdomeenissa sijaitsevat heksapeptidimotiiveina tunnetut alueet, PHF6 (VQIVYK) ja PHF6* (VQIINK), jotka tavallisesti eivät ole käytettävissä fysiologisissa tau-monomeereissä, ja jotka voivat toimia nukleoivina segmentteinä ja aiheuttaa tau-aggregaatiota (Nizynski, Dzwolak ym. 2017, Polanco, Li ym. 2018). VQIVYK- ja VQIINK-motiivien on ehdotettu edistävän aggregaatiota indusoimalla nukleotapahtumia, koska ne lisäävät taipumusta muodostaa rakenteita, jotka sisältävät runsaasti β -levyrakenteita (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Mielenkiintoista on, että myös tau-monomeerit, jotka on eristetty aggregaatti-tau:sta, voivat itse aiheuttaa tau-aggregaatiota johtuen VQIVYK-motiivin konformaatiovaikutuksesta (Polanco, Li ym. 2018). Tau:n hyperfosforylaatiolla voi olla kriittinen rooli tämän motiivin altistamisessa (Polanco, Li ym. 2018).

Viivefaasin jälkeen alkaa prosessi, jota kutsutaan kylvöksi, jossa kypsien tau-fibrillidinten (siementen) muodostumisen jälkeen seuraa amyloidifibrillin nopea kasvu. Liukoisten proteiini-molekyylien liittyminen fibrilliin johtaa siementen kasvuun, jonka on ehdotettu etenevän vetoketjuillisen mekanismin avulla, jossa tau:n taivutetut molekyylit muodostavat β -säikeitä. Tau-monomeerien peräkkäinen sisällyttäminen fibrillien kärkeen tämän mekanismin avulla mahdollistaa kasvun. Tässä vaiheessa fibrilli voi myös pirstoutua osiksi ja tuottaa näin ollen lisää siemeniä. (Nizynski, Dzwolak ym. 2017) Lopuksi amyloidogeneesi pysähtyy tasaantumisvaiheessa, kun maksimaalinen määrä tau-monomeerejä on koottu neurofibrilliksi. (Nizynski, Dzwolak ym. 2017)

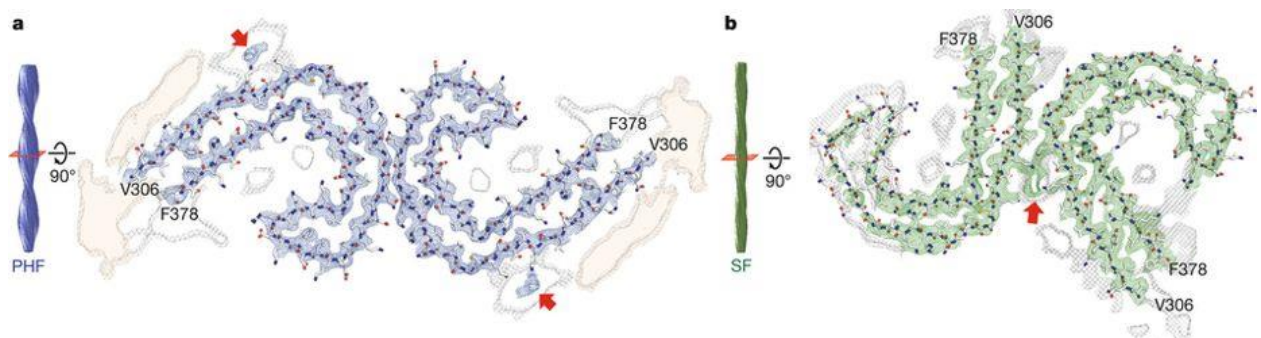
Uuden lähestymistavan mukaan tauopatian eteneminen AD:ssä tapahtuu tau-aggregaattien leviämällä solusta soluun trans-synaptisen leviämisen avulla (kuva 4F). Tauopatia leviää neurooneissa, kun patologinen tau vapautetaan ekstrasellulaariseen tilaan, ja uudet hermosolut ottavat sen sisäänsä (kylvö ja levitys), eikä kyse siis ole pelkästään yksittäisten hermosolujen vaiheittaisesta altistuvuudesta taudin vaihteleviin patologioiden. (Polanco, Li ym. 2018)

Siementen kylväminen ei tapahdu yhtenäisellä tavalla. Pikemminkin erilaiset "prionin kaltaiset" tau-kannat, joissa kussakin on ainutlaatuisia biokemiallisia ominaisuuksia, indusoivat erilaisia patologisia aggregaation fenotyypppejä *in vitro* ja *in vivo*, ja niillä on kyky levittää tauopatiaa eri nopeuksilla riippuen kohdennetusta aivojen alueesta. Nämä tau-kannanomaiset piirteet paljastettiin injektioimalla aivojen uutteita ihmisiltä, jotka olivat kuolleet eri tauopatioiden kautta ihmisen tau-ilmentävien transgeenisten hiirien hippokampukseen ja aivokuoreen. Kaikissa vastaanottajahi-

rissä muodostui argyroiilinen tau-sulkeuma, ja vastaavien aivouutteiden injektion jälkeen erottuvien tauopatioiden, kuten progressiivisen supranukleaarisen halvauksen ja kortikobasaalisen degeneraation, tunnusmerkit leimattiin. Täten tau-kannan vaihtelu voi aiheuttaa ihmisen tauopatioiden monimuotoisuuden. (Polanco, Li ym. 2018)

Kylvökompetentteina toimivia tau-aggregaatteja on kuvattu monenlaisina koostumuksina, jotka vaihtelevat trimeeristen matalamolekyyli­massan aggregaattien ja lyhyiden fibrillaaristen suurimolekyyli­massan aggregaattien välillä. Aggregaatit, joissa on vähintään heksameerin koko, ovat kuitenkin tehokkaimmin internalisoituja, ja niillä on suurempi kylvökapasiteetti kuin joko suuremmilla tai pienemmillä lajeilla. Yksi tapa vapauttaa tau on kapselointi eksosomeihin, ja lipidikalvojen kapseloimat tau-siemenet saattavatkin olla fysiologinen tapa, jolla tau-aggregaatit erittyvät ja siirtyvät naapurisoluihin. Vuonna 2017 tau:n neuronaalisen leviämisen havaittiin edeltävän synaptista ja neuronaalista rappeutumista AD-hiirimallissa, jossa on tau:n spesifinen ilmentyminen. (Polanco, Li ym. 2018)

Tau-aggregaatit ovat rakenteellisesti heterogeenisiä ja ne voivat esiintyä joko parillisina kierteinä (kuva 5A) tai suorina (kuva 5B) tau-filamentteina, tai muina rakenteina (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Tutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että AD-potilaiden aivojen tau-rakenteet eivät eroa keskenään merkittävästi toisistaan, mikä parantaa uusien hoitomuotojen kehittämisen mahdollisuuksia (Falcon, Zhang ym. 2018).



Kuva 5. Tau:n Kryo-EM rakenteet Alzheimerin taudissa. A) Parillisen helikaalisen filamentin (PHF) ja B) Suoran filamentin (SF) Kryo-EM-tiheys ja -atomimallit. Kierrekonstruktioiden yleiskuvissa (vasemmalla) on esitetty poikkeileikkauksen (oikealla) suunta. Terävöitetty korkearesoluutioiset kartat näkyvät sinisenä (PHF) ja vihreänä (SF). Punaiset nuolet osoittavat ylimääräisiä tiheyksiä K317:n ja K321:n kohdalla. Terävöittämätön, 4,5 Å:n suodatintiheys näkyy harmaana. Oranssi taustalla korostettu terävöittämätön tiheys muistuttaa β -levyä ja siihen mahtuu vielä 16 aminohappoa, jotka vastaavat tähteitä 259–274 3R tau:sta ja tähteitä 290–305 4R tau:sta. Kuva: Fitzpatrick, Falcon ym. 2017

4. AB:N JA TAU-PROTEIININ YHTEISVAIKUTUKSET JA NEUROTOKSIKSIUS

Amyloidikaskadihypoteesin mukaan A β :n kerääntymisellä aivoihin on ensisijainen vaikutus Alzheimerin taudin patogeneesissä. Lopun tautiprosessista, mukaan lukien tau-proteiinia sisältävien neurofibrillaaristen muutosten muodostumisen, oletetaan johtuvan epätasapainosta A β :n tuotannon ja A β :n hajotuksen välillä (Hardy, Selkoe 2002, Nizynski, Dzwolak ym. 2017). On kuitenkin epäselvää, missä määrin tau-patologiat riippuvat A β -aggregaatiosta (Nizynski, Dzwolak ym. 2017).

A β :n päärooli AD:ssä on erityisen selvä Alzheimerin taudin perinnöllisen muodon (FAD) tapauksessa. Tässä AD-muodossa autosomaaliset mutaatiot yhdestä kolmesta geenistä, PS1 (presenilin

1), PS2 (presenilin 2) tai APP (amyloidi-beeta-prekursoriproteiini), ovat riittäviä aiheuttamaan taudin oireet. Mahdollisiin riskitekijöihin satunnaisessa Alzheimerin taudissa (SAD) sisältyy apolipoproteiini E:n (ApoE) ϵ 4-alleelin mutaatio, joka todennäköisesti vaikuttaa A β :n puhdistumismekanismeihin. Lisäksi joidenkin muutosten MAPT-geenin (mikrotubulus assosioitu proteiini tau geeni) ilmentymisessä tai vaihtoehtoisessa silmukoinnissa on ehdotettu liittyvän AD-riskiin. (Nizynski, Dzwolak ym. 2017)

A β :n ensisijaisten vaikutusten rinnalla on kuitenkin selvää, että tau on vahvasti mukana AD-tautikuvassa, sillä AD-patologia liittyy erottamattomasti neuronikuolemaan, jota välittää tau-oligomerisaatio/aggregaatio (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Lisäksi on selvää, että tau on välttämätön A β :n toksisille vaikutuksille, koska tau-ehytyneet hippokampuksen hermosolut eivät ole alttiita neurodegeneraatiolle A β -amyloidi-aggregaateilla hoidettaessa (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Tau:n merkitystä korostaa myös havainto, että kognitiivinen heikentyminen onnistuttiin estämään transgeenisillä hiirillä, joilla oli FAD-mutaatioita ja hAPP:n yliekspressointi, tau-ekspression vähentämisellä, jopa silloin kun A β :n tuotanto oli korkea (Nizynski, Dzwolak ym. 2017).

Tau ja A β -aggregaation välillä näyttää olevan vuorovaikutus, sekä *in vitro* että *in vivo* ja A β -patologia voi esimerkiksi edesauttaa tau-patologiaa nopeuttamalla tau-fibrilisaatiota ja johtamalla dendriittisten haarakkeiden tiheyden ja kognitiivisen heikkenemisen pienenemiseen (Nizynski, Dzwolak ym. 2017). Lisäksi A β -dimeerien on osoitettu indusoivan tau:n hyperfosforylaatiota ja heikentävän mikrotubulus-verkkoa, mikä johtaa neuriittiseen rappeutumiseen hippokampuksen neuroneissa. (Nizynski, Dzwolak ym. 2017)

A β :n ja tau:n yhteisvaikutukset dendriittisissä postsynapseissa todettiin havainnolla, että dendriittinen tau välittää A β -toksisuutta kohdentamalla tyrosiiniproteiinkinaasi FYN:n dendriitteihin ja niiden haarakkeisiin (dendritic spines) (Polanco, Li ym. 2018). FYN sitten fosforyloi NMDAR-alayksikön NR2B, mikä helpottaa vuorovaikutusta PSD95:n kanssa eksitotoksisen kompleksin muodostamiseksi. A β sitten signaloi tämän kompleksin kautta välittäen eksitotoksisuutta (kuva 6A). Siis fosforyloitujen tau-tasojen kohotessa myös FYN-tasot lisääntyvät dendriittien haarakkeissa, mikä puolestaan lisää A β -toksisuutta (Polanco, Li ym. 2018).

On myös havaittu, että tau:n kerääntymistä soomaan ja dendriitteihin välittää osittain A β , ja vuonna 2017 onnistuttiin osoittamaan, että A β -välitteinen mekanismi johtaa tau:n paikalliseen tuotantoon somatodendriittisillä alueilla (Polanco, Li ym. 2018). Tutkimuksessa osoitettiin, että oligomeerinen A β aiheutti *de novo*-proteiinisynteesin tau:lle somatodendriittisessä osastossa, jota välitti FYN, solunulkoinen signaali-säädely kinaasi 1 (ERK1; MAPK3), ERK2 (tunnetaan myös nimellä MAPK1) ja ribosomaalinen proteiini S6 (kuva 6A). Tämä tau-proteiinitasojen kasvu liittyi tau:n lisääntyneeseen fosforylaatioon tyrosiini-, treoniini- ja seriinitähteissä.

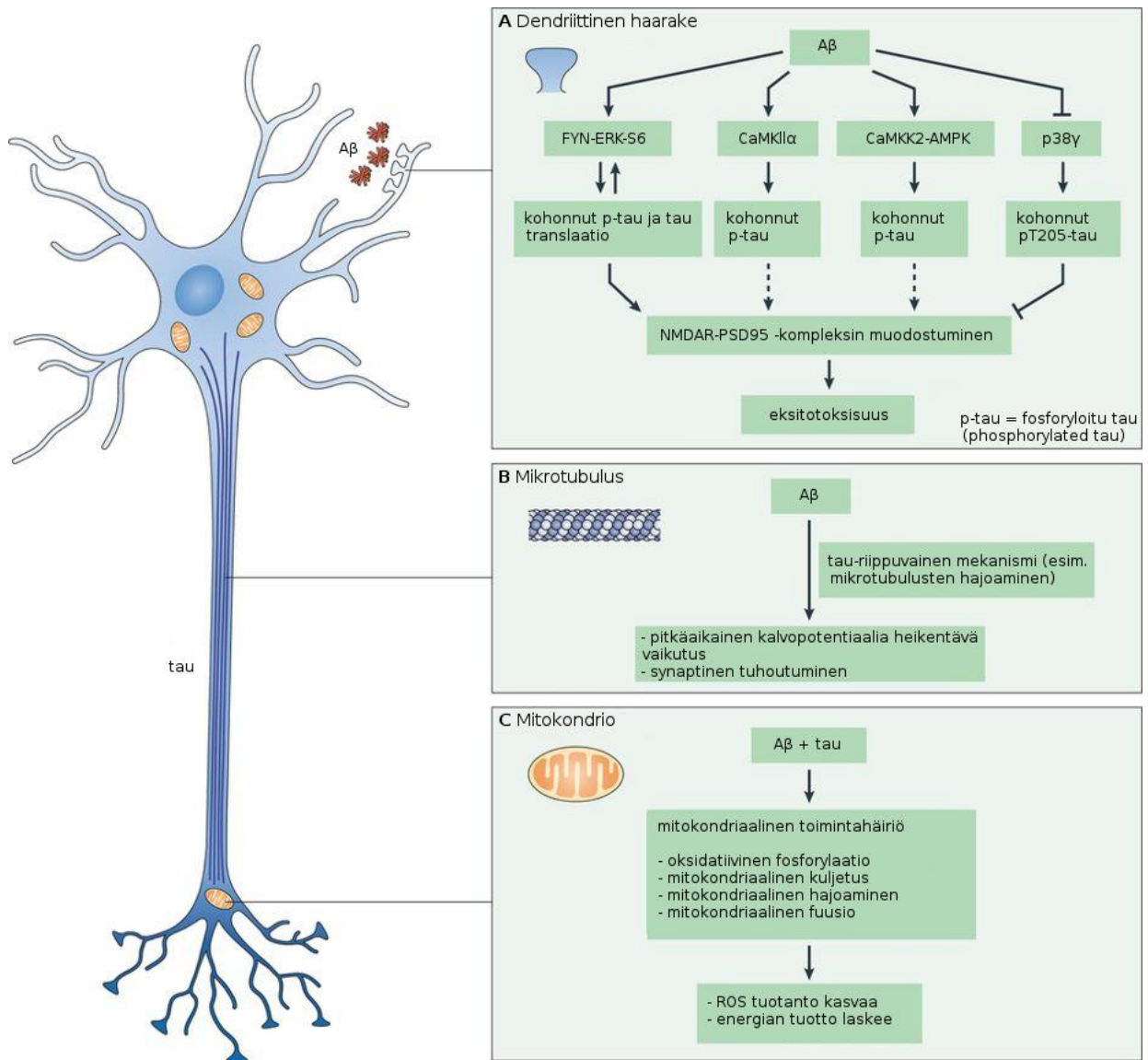
Lisäksi A β :n synaptotoksisia vaikutuksia tau:n kautta välittää muun muassa CaMKK2 (kalsium-/kalmoduliiniriippuvainen proteiinkinaasikinaasi 2) -AMP-kinaasireitti (Polanco, Li ym. 2018). Tyyppin I oligomeeri A β *56 voi muodostaa kompleksin synaptisten NMDAR:ien kanssa, mikä johtaa poikkeavaan lisääntymiseen solunsisäisessä kalsiumpitoisuudessa ja CaMKII:n α -alayksikön aktivointiin, joka sitten fosforyloi tau:n (kuva 6A). Näiden signaalointikaskadeiden aiheuttaman tau-fosforylaation oletettiin aikaisemmin edesauttavan eksitotoksisen kompleksin muodostumista, kunnes p38y:n välittämän lisääntyneen Thr205-fosforylaation mekanismi tunnistettiin vuonna 2016 ja sen osoitettiin edistävän tämän kompleksin dissosiaatiota, mikä inhiboi A β -indusoidua eksitotoksisuutta (kuva 6A) (Polanco, Li ym. 2018). Tämä kohonnut pT205-tau on kuitenkin välttämätön A β :n synaptiselle toksisuudelle, ja se on osoitettu havainnolla, jonka mukaan tau-knockout-hiiristä peräisin olevat hippokampuslohkot ovat vastustuskykyisiä oligomeerisen A β :n indusoiman pitkäaikaisen potentiaalin heikentymiselle (Polanco, Li ym. 2018). A β -oligomeerit voivat aiheuttaa myös

synaptista vajaatoimintaa tau-riippuvaisella mekanismilla, joka käsittää mikrotubuloiden katkaisun, proteiinien spastiinin ja tubuliinin polyglutamyalaasin TTLL6 kautta (kuva 6B) (Polanco, Li ym. 2018).

Lopuksi, A β - ja tauopatioiden yhdistäminen siirtogeenisissä hiirimalleissa johtaa myös mitokondriaaliseen toimintahäiriöön ja synergistiseen ROS-tasojen (haitallisten reaktiivisten happitasojen) kasvuun (kuva 6C) (Polanco, Li ym. 2018). A β :n ja tau:n välinen monimutkainen yhteisvaikutus heikentää kaikkia mitokondrioiden toiminnan neljää pääasiallista näkökohtaa: oksidatiivista fosforylaatiota, bioenergeettiikkaa, mitokondriodynamiikkaa (kuljetus, fissio ja fuusio) sekä mitofagiaa (vaurioituneiden mitokondrioiden poistaminen autofagin avulla). Mitokondrion toiminnan häiriintyminen johtaa häiriintyvään synaptiseen tarttumiseen, apoptoosiin ja viime kädessä neurodegeneraatioon. (Polanco, Li ym. 2018).

Taulukko 1. A β -peptidi ja tau-proteiini Alzheimerin taudissa.

	Aβ	Aβ ja tau	tau
Eri muodot	A β 40, A β 42, A β 38, A β 43, A β 45, A β 46, A β 48, A β 49	-	0N3R, 1N3R, 2N3R, 0N4R, 1N4R, 2N4R
Post-transitionaaliset modifikaatiot	hapettuminen, pyroglutamyalaatio, nitraatio	fosforylaatio, glykosylaatio, isomerointi, sumolyaatio	proteolyyttinen pilkkoutuminen, asetylointi, ubikiti-naatio, metylaatio, poly-aminaatio, glykaatio ja nitraatio
Makroskooppiset muutokset	amyloidiplakit	monomeerit, oligomeerit, protofibrillit, filamentit	neurofibrillaariset muutokset
Neurotoksisuus	vesikkelien häirintä	tulehdusvasteet, mitokondrioiden toimintahäiriöt, heikentynyt aksonaalinen kuljetus, synaptinen eksitotoksisuus, trans-synaptinen eteneminen	aksonin alkusegmentin uudelleenkohdistaminen, kromatiinin purkautuminen, steerinen haitta

Nature Reviews | **Neurology**

Kuva 6. Aβ:n ja tau:n yhteisvaikutukset AD-potilaan neuronissa. Kuva: Polanco, Li ym. 2018, suomentanut Pinja Toivanen

5. YHTEENVETO

Alzheimerin taudin taudinkuvaan kuuluu Aβ- ja tau-proteiinin kertyminen aivokudokseen. Näiden proteiinien modifioituneet muodot muodostavat laajan kirjon ja kerääntyvät monitasoisten aggregaatiotilojen kautta seniileiksi plakeiksi kaikkialle aivojen eri osiin. Nämä muutokset aiheuttavat hermosolujen rappeutumisen ja kognitiivisten toimintojen heikkenemisen.

Aβ muodostuu, kun sitä pilkotaan APP-proteiinista kaanonisella amyloidogeenisellä reitillä. Kertyminen aivokudokseen alkaa, kun sen muodostaminen kiihtyy ja hajotus hidastuu. Erityisen altis aggregoitumiseen on Aβ:n muoto Aβ42, mutta kaikki Aβ muodot alkavat aggregoitua niiden kon-

sentraation kasvaessa aivokudoksessa. A β :n toksisuuden kulmakivi on juurikin sen aggregoituminen liukoisiksi oligomeereiksi, jotka ovat kykeneviä liikkumaan aivojen läpi ja näin ollen häiritsemään vesikkelien toimintaa hermosolujen synapseissa.

Tau-proteiini muuttuu toksiseksi, kun se läpikäy sen normaalia konformaatiota muuttavia translaation jälkeisiä muutoksia, kuten fosforyloitumista. Liiallisen fosforylaation ansiosta tau:n assosiaatio mikrotubuluksiin heikkenee, mikä voi johtaa esimerkiksi sen aminotermiinin assosioitumiseen sen mikrotubulusta sitovien jaksojen kanssa. Näin voi muodostua tau-fibrillidyn, jota seuraa fibrillin nopea kasvu. Tau-toksisuus leviää helposti hermosolusta toiseen, kun fibrillit hajoavat ja leviävät trans-synaptisesti.

A β :n ja tau:n aggregoitumisen on todettu kiihdyttävän toistensa toksisuutta monella eri tavalla, ja monipuoliset A β :n ja tau:n vuorovaikutukset hermosoluissa kertovat siitä, että tau:n ja A β :n aggregaation keskinäisellä suhteella on suuri vaikutus neuropatologiaan tässä sairaudessa (Nizynski, Dzwolak ym. 2017, Polanco, Li ym. 2018). Kuitenkin tämän kuvan täydentämiseksi ja näiden konvergenssireittien suhteellisten osuuksien määrittämiseksi tarvitaan yhä enemmän tutkimustyötä (Polanco, Li ym. 2018).

Alzheimerin tauti on parantumaton sairaus, sillä ikääntyminen liittyy vahvasti sen puhkeamiseen. Kyseessä on kuitenkin merkittävästi elämänlaatua heikentävä kansansairaus, joten taudin etenemisen hidastamiseen kaivataan uusia hoitokeinoja. Koska A β :n ja tau:n patologinen kerääntyminen alkaa jo kauan ennen kliinisten oireiden ilmaantumista, olisi tärkeää pystyä aloittamaan hoito jo ennakkoidusti esimerkiksi geneettisen riskin omaavilla potilailla (Polanco, Li ym. 2018).

Patologisten A β - ja tau-muotojen monimuotoisuus ja niiden syntymekanismit antavat tietoa kliinisten terapioiden suunnitteluun ja erittäin herkkien ja spesifisten biomarkkereiden kehittämiseen (Polanco, Li ym. 2018). Koska A β ja tau ovat myös normaaleita terveissä aivoissa esiintyviä proteiineja, haaste syntyy patologiin muotoihin spesifisten lääkeaineiden kehittämiseen. Alzheimerin taudissa esiintyvien laajojen A β - ja tau-lajien sekä niiden aggregaatiotilojen olemassaolo viittaa myös siihen, että potilaskohtaiset erot vaikuttavat sairauden etenemiseen ja terapeuttisiin tuloksiin (Polanco, Li ym. 2018). On siis selvää, että Alzheimerin taudin taakan helpottamiseksi tulevaisuudessa kaivataan paljon lisää tutkimustyötä.

6. LÄHDELUETTELO

BARNHAM, K.J., CICCOTOSTO, G.D., TICKLER, A.K., ALI, F.E., SMITH, D.G., WILLIAMSON, N.A., LAM, Y., CARRINGTON, D., TEW, D., KOCAL, G., VOLITAKIS, I., SEPAROVIC, F., BARROW, C.J., WADE, J.D., MASTERS, C.L., CHERNY, R.A., CURTAIN, C.C., BUSH, A.I. ja CAPPAL, R., 2003. Neurotoxic, Redox-competent Alzheimer's β -Amyloid Is Released from Lipid Membrane by Methionine Oxidation. *Journal of Biological Chemistry*, **278**(44), s. 42959-42965.

BRION, J.P., PASSAREIRO, H., NUNEZ, J. ja FLAMENT-DURAND, J., 1985. Mise en évidence immunologique de la protéine tau au niveau des lésions de dégénérescence neurofibrillaire de la maladie d'Alzheimer. *Référence Archives de biologie*, **95**, s. 229-235.

CRESCENZI, O., TOMASELLI, S., GUERRINI, R., SALVADORI, S., D'URSI, A.M., TEMUSSI, P.A. ja PICONE, D., 2002. Solution structure of the Alzheimer amyloid β -peptide (1–42) in an apolar microenvironment. *European Journal of Biochemistry*, **269**(22), s. 5642-5648.

- DEMUTH, H., HEISER, U., LINDNER, C., PROKESCH, M., ROSSNER, S., HOFFMANN, T., JAGLA, W., CYNIS, H., HOLZER, M., HUTTER-PAIER, B., RUDOLPH, T., REUTER, G., SCHLENZIG, D., SCHILLING, S., MONTAG, D., FRANCKE, M., ZEITSCH, U., WINDISCH, M. ja KEHLEN, A., 2008. Glutaminyl cyclase inhibition attenuates pyroglutamate A β and Alzheimer's disease-like pathology. *Nature Medicine*, **14**(10), s. 1106-1111.
- FALCON, B., ZHANG, W., SCHWEIGHAUSER, M., MURZIN, A.G., VIDAL, R., GARRINGER, H.J., GHETTI, B., SCHERES, S.H.W. ja GOEDERT, M., 2018. Tau filaments from multiple cases of sporadic and inherited Alzheimer's disease adopt a common fold. *Acta Neuropathologica*, **136**(5), s. 699-708.
- FROST, B., HEMBERG, M., LEWIS, J. ja FEANY, M.B., 2014. Tau promotes neurodegeneration through global chromatin relaxation. *Nature neuroscience*, **17**, s. 357.
- GLENNER, G.G. ja WONG, C.W., 1984. Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **120**(3), s. 885-890.
- GOODSELL, D., 2006-last update, PDB101: Molecule of the Month: Amyloid-beta Precursor Protein. Saatavilla: <http://pdb101.rcsb.org/motm/79> [Oct 22, 2018].
- GOURAS, G., OLSSON, T. and HANSSON, O., 2015. β -amyloid Peptides ja Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease. *Neurotherapeutics*, **12**(1), s. 3-11.
- HARDY, J. ja SELKOE, D.J., 2002. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science*, **297**(5580), s. 353.
- MURPHY, M.P. ja LEVINE, H., 2010. Alzheimer's Disease and the β -Amyloid Peptide. *Journal of Alzheimer's disease*, **19**(1), s. 311.
- NIZYNSKI, B., DZWOLAK, W. ja NIEZNANSKI, K., 2017. Amyloidogenesis of Tau protein. *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, **26**(11), s. 2126-2150.
- POLANCO, J.C., LI, C., BODEA, L., MARTINEZ-MARMOL, R., MEUNIER, F.A. ja GÖTZ, J., 2018. Amyloid- β and tau complexity — towards improved biomarkers and targeted therapies. *Nature Reviews Neurology*, **14**(1), s. 22-39.
- SELKOE, D.J., 2001. Alzheimer's Disease: Genes, Proteins, and Therapy. *Physiological Reviews*, **81**(2), s. 741-766.
- SEPPÄLÄ, T.T., NERG, O., KOIVISTO, A.M., RUMMUKAINEN, J., PULI, L.M., ZETTERBERG, H., PYYKKÖ, O.T., HELISALMI, S., ALAFUZOFF, I., HILTUNEN, M., JÄÄSKELÄINEN, J.E., RINNE, J., SOININEN, H., LEINONEN, V. ja HERUKKA, S.-., 2012. CSF biomarkers for Alzheimer disease correlate with cortical brain biopsy findings. *Neurology*, .
- WEILAN, H. ja COLIN, J.B., 1999. The A β 3-Pyroglutamyl and 11-Pyroglutamyl Peptides Found in Senile Plaque Have Greater β -Sheet Forming and Aggregation Propensities in Vitro than Full-Length A β . *Biochemistry*, **38**(33), s. 10871-10877.